

Flash Notes

Microbiology | Chapter 18

Acid fast bacilli

عائلة ال mycobacterium وهى العائلة اللى بتشمل على members اسمهم

Acid fast bacilli

اتعودنا فى كل genus نبدأ بال general characteristics

سؤال اهو ايه هى ال genera features بتاعه عيله ال Mycobacterium ؟؟

١- Acid-fastness يعنى ايه ؟ نفهمها كويس ونشوف ايه سببها

عيله ال Mycobacterium عبارته عن wall ال bacilli بتاعها فيه ظاهرتين مهمين

١- layer of peptidoglycan تشبه ال gram positive bacilli طبقه سميكة .

40 sheet زى الوصف اللى اخدناه زمان فكان مفترض لو صبغت بال gram تاخذ الصبغه ،

بس لقينا ظاهره غريبه مبيأخدش الصبغه بسهولة قعدنا ندور ليه .

٢- لقينا وجود layer اخرى غنيه بال lipids المنطقه المنطقه دى فيها high lipid content

تبقى عامله زى الشمع كده ..هل ف مايه تخرق الشمع ؟ ... لا

حتى كانوا بيسموها زمان wax layer

يبقى صعب صبغه عاديه تعدى من الشمع او ال lipid ده و ده يمنع ال organism من انه يتصبغ بال
gram stain احط ال methylene blue مايعملش حاجه ، احط ال alcohol مايعملش حاجه ، احط
carbon fuchsin المخفف مايعملش حاجه وفى الآخر بيان unstained يبقى ماتصبغش بال gram علشان
كده ماقدرش اقول عليه gram positive ولا gram negative

فى واحد من تلامذه gram لقط الفكره بس قال هنعمل عليها شويه modification فقال هعمل ايه ؟

١- احط صبغه مركزه

٢- واسخن لعل التسخين يسيح شويه ال lipids يقوم يسمح للصبغه بالاخترق

٣- مسيب ال stain فتره طويله على ال organism .

يبقى عملو ٣ تعديلات ع فكره الصبغه الاساسيه بتاعه gram .

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

يبقى لما احط الصبغه بتركيز عالى واسخن وأسيبها فتره هيحصل ايه؟

هتتصيح بصعوبه ال fuccin ده لونه ايه؟ احمر يبقى ال organism هياخد اللون الاحمر واى حاجه حوالين ال organism تاخذ اللون الاحمر

ولما جينا نجرب نشيل اللون، نشيله بحاجات قويه ال alcohol مثلا، لقينا ال organism ما فقدش اللون تدرجنا وبقينا نحط H_2SO_4 وبرده ال organism مازل محتفظ بلونه؟ وكان ال organism فكر الفكر الاتي ف حكمه او مثل بتقول **easy come, easy go**.

اللى سهل صبغته سهل يفقد صبغته لكن **hard come, never go**.

يعنى ما يحسش بقيمه الشئ غير اللى تعب فيه، فاللى تعب علشان ياخذ اللون الاحمر (صبغه مركزه ولده طويله وتسخين) لما اجى اشيل الصبغه يقولك وهو انا عبيط اشيل الصبغه علشان يرجعو يصبغو فيا تانى والله مانا سايب الصبغه. يبقى هو كدا بيقاوم ال decoloration بتاع ال acid.

كان واحد قاوم الاحساس بالجوع، قاوم الرغبه ف الاكل (انك تصوم) فراحو مسمينه fast ودى معناها يعنى بي resist... resist ايه؟؟؟

ب resist ال acid فراحو مسمينه Acid fast organism يقاوم ال decolourization بال acid وبال alcohol كمان، دايماف الاخر بحط differential stain فراحو حاطين methylene blue عمل ايه؟

يبقى ال organism بيان ايه لو صبغته بالصبغه دى **ziehl neelsen** ؟

بيان bacilli حمرا ع خلفيه زرقه.

الفكره ايه صبغت ب ziehl neelsen ال organism خد اللون الاحمر فى الخطوه الاولى لاني سخنته وعذبتة ودخلت الصبغه غصب عنه ولانه علشان اتعذب علشان ياخذ الصبغه فمارضيش يفقدها واحتفظ باللون الامر انما اى حاجه ف ال back ground يحصلها decoulerization.

ولما احط ال methylene blue فى الاخر ال background زرقه.

السؤال فى الحته دى ييجى يقولك

Explain why???

Mycobacterium is Acid fast?

علشان ال cell wall rich in lipids..الى يتخليها ت resist الصبغه (gram) بسهولة.

ال feature التانيه فى العيله انها slow grower ودى مش غريبه عليكو عملتلكو عليها مساله الترم الاولانى.

يعنى ايه generation time?

Time between 2 successive cell divisions

يتراوح من ربع ساعه فى البكتيريا المعاديه الى ٢٤ ساعه فى ال T.B يبقى لو عندى بكتيريا من T.B واحده ووزعتها تبان colonies بعد اد ايه؟ هى المفروض بتدى ال colonies بعد كام division ؟
٣٠ _ ٢٠ يبقى محتاجه ٣٠ او ٢٠ يوم علشان تبقى colonies .

من هنا عيله ال mycobacterium عندها slow rate growth نتيجة long generation time وده سؤال اخر.....

Give reason????

وده خلانا نقسم العيله slow grower بشكل مطلق واقول ان دول بيحتاجو more 7 days علشان يدونى visible colonies
امال اللى بـ grow فى اقل من اسبوع اقول عليه ايه ؟ rapid grower ع فكره rapid grower دى خادعه لان بعضكو ممكن يفتكر انها rapid زى البكتيريا المعاديه .
ده rapid grower relatively محتاج ٦ ايام مثلا علشان يـ grow هو برضو slow grower بس مقارنه باللى يـ grow فى اسبوعين او ثلاثه فهو يعنى rapidly grow
ال character الخيره ان ال organism obligate aerobes...
ودى تفتكرها ازاي ؟
اشهر منطقه بيعمل فيها infection هى منطقه ال lung وبيعلم pulmonary T.B حيث الهواء الطلق
ودى هاستخدمها فى ال MCQ .

ادى ال general character بتاعه العيله دى
تروح بقى ال members بتوعها قسموها 4 groups.

1 – mycobacterium T.B complex (tubercle bacilli)

وهى ال bacilli اللى ليها القدره انها تعمل disease اسمه tuberculosis

Which characterizer by tubercle (granuloma formation).

ودى فيها ال 4 members

m.tuberculosis وزمان كانوا بيسموه ال human type .

M.bovis وزمان كانوا بيسموه ال bovin type

M.africanum _ M.microti

كلهم او ايا منهم قادر انه يعمل tuberculosis فيها characteristic lesion اسمه tubercle سواء فى البنى ادمين او ال animal .

المجموعة الثانية ما يعملوش نفس ال pathology (tubercle lesion) وسميهاهم

NTM (non tuberculous mycobacterium) .

يعملو حاجات تانية غير الت tubercle lesion النموذجي يعني ممكن يعملو ulcer مثلا .

٣- mycobacterium lebrae يعملو مرض ال leprosy مرض الجزام .

٤- Saprophytic mycobacterium يعيشو free living فى الهوا وال soil والماليه ويببقو rarely

يعملو disease وده فى الناس immune defecient or immune compromised

نروح لا member اللى تفاصيله تهمنى جدا اللى زمان كانو بيسموه human type اللى بيعملو

tuberculosis السل او الدرن .

نبدأ الحديث عن ال morphology

١- لسه عارفين من شويه ان عيله ال mycobacterium دي Acid fast

اوعى تسرح فى الامتحان وتكتبلى gram positive or negative .

رفيعه تقدر تستخدم كلمه من ثلاثه clinder, thin, delicate

طيب اتفقت معاك من شويه فى ال ziehl - Nelsen انى بصيغه بصيغه حمرا واجى اشيل الصبغه resist

decoloration علشان كده اسمه Acid fast بعد كذا احط صبغه تانيه زرقه فتصبغ ال serounding

background فهتظهر ازاي؟ Red bacilli in blue background

فيه صبغه تانيه اسمها flurecent stain او fluro chrome stain او auramine_rhomine .

لو حطيت ال fluorescent بالعافيه بالعافيه تقوم تاخذ ال flurecnt stain تيجي تشيلها تلاقىها بتقاوم

ال decolorization يبقى هي appear ايه لو سلطت عليه uv هيظهر فيه وميض فيه

flurecence orange bacilli in black background

لو كان ال organism مزروع ع fluid media وأخذت منه film هلاحظ إيه؟ هلاحظ إن ال bacilli شبكت

في بعض وعلمت حبل معرج كدة زي بتاع الزواحف اسمه serpentine cords وده سؤال ، علل ال

mycobacterium عملت growth ع fluid media

هتديني شكل حبل serpentine cords؟ لأن عندها cord factor هنتكلم عليه دلوقتي في ال virulence

factors يعني ال bacilli يمस्क في بعض فتبان حبل ملولو.

Morphology

acid fast bacilli ← morphology ال

بصبغهم بصبغة من الأثنين، صبغة عادية اسمها Ziehl-Nelseen فيبان pink bacilli with blue

background أو fluorescent stain فيبان orange flurecent with black background هنا بتفرج

بالميكروسكوب العادي وهنا بتتفرج ب ميكروسكوب ب UV ، لو عملت فيلم من fluid culture ده بيشجع

ال bacilli إنهم يمسكوا في بعض ويدوني serpentine cords

ودايما ف فوليوم ٢ افتح الأطلس وانت بتذاكر

وال slide ده يخليني أقولك هدية في العملي ، لو لاقيت ال background زرقه يبقى عندك احتمالين TB

أو leprosy والأثنين بـ Ziehl-Nelsen لإني مبستخدامش الأزرق في الـ gram. بص ع الـ bacilli لو لاقيتها متفرطة يبقى TB لو لاقيتها متجمعة وعاملة bundle أو جروب يبقى ده leprosy متجمعة كأنها خلية، خلي بالك إن في الـ fluorescent stain لازم تستخدم UV microscope والجزء المصبوغ بس هو اللي بيان fluorescent والباقي أسود لإنها invisible.

Culture characters

قولنا إن الـ organism ده aerobic ومحتاج special media عشان يـ grow طيب ليه؟ لأن عايش معاه other organisms يعني هو دلوقتي عايش في الـ lung لما يجي المريض يكح ويجيلي الـ sputum هلاقي فيه TB bacilli & other flora، بزرعهم عـ enriched media هتحتاج وقت طويل up to 8 weeks عشان تـ grow طيب لو شبهت ده بني آدم بياكل ويمضغ عـ مهله فين وفين تلاقيه بياخد لقمة، إنما واحد مفجوع زي الـ flora بيـ grow كل ربع ساعة مين هيستهلك الـ media بسرعة؟ flora، فمتلاقيش الـ TB أي media كفاية تتغذى عليها فمياحصلش grow عشان كدة محتاج specified media.

طيب تفتكروا المفروض تبقى characterized بـ إيه؟ selective الـ media اللي اسمها lowenstein-jensen medium دي فيها بيض مضروب، الـ organism بيحب البيض ودي تعتبر rich لإنها غنية بـ biological nutrient protein والبروتين بتاعه البيض هتدي قيمة غذائية عالية للـ organism، طب ما هي هتدي القيمة العالية دي برضو للـ flora عشان كدة أروح حاطط صبغة اسمها malachite-green dye بضيف الـ malachite دي لإنها toxic للـ respiratory flora وتمنع الـ flora إنها تـ grow ولكنها بتسمح للـ TB بالنمو عشان كدة يسميها selective

أوريك شكل الـ media عشان مهمة جدًا بإسئلتها في العملي والشفوي، media لونها أخضر أهـي محطوطة في tube صغيرة مقفولة بـ cap أو محطوطة في أنبوبة طويلة مقفولة بـ rubber سدادة مطاطية، الـ media solid دليل إنها واقفة أهـيه slope في الشفوي ممكن أدريك الإزاحة دي وأسألك دي إيه؟ lowenstein Jensen medium ونوعها إيه؟ selective media إزاي؟؟ بإضافة الـ malachite dye أو هو ده اللي في الـ medium أو إنه إتحقن.

السؤال اللي هسألهولك الـ medium ده solid صح؟ طب إيه اللي خلاها solid؟؟ هل بإضافة الـ agar لأ.

هرجع للكلمة دي egg based لما تمسح الكلمة دي تعني إن الـ egg هو الـ enrich للـ organism وهو الـ solidifying agent يعني بعض ما أحضر البيضة لو سخنتها هتجمد، زي البيضة لو سبقتها هتتجمد، الـ egg prt هيجصله heat coagulation

حاجتين بس من أول السنة سمعناهم يُستخدم فيهم البيض عشان ال solidification

1) Mycobacterium "Lowenstein Jensen medium"

2) Diphtheria "Löffler's medium"

نفس الفكرة لإن Löffler's ده serum وال serum فيه prt ف لو سخناها هتتجمد heat protein coagulation خلي بالك إن ده سؤال شفوي فيه medium ثانية اسمها middlebrook's medium فكرتها عجباي أوي تحس إنك داخل فندق five stars وطلبت شاي ف من الإتيكيت يجيلك براد الشاي والسكر برة زى ما بنقول ف القهوة ولتانة كدة فيها حبة لبن ويقولك أنفضل، الراحل اسمه middlebrook عمل كدة جاب enriched media في صورة شوربة، قالم عايز تزرع ال TB ع media fluid عشان تشوف ال serpentine cords طيب أهى في صورة شوربة "fluid" ولو عايزها تبقى solid أبقى كل شوية أجار وجاب شوية antibiotic، عايزها تبقى selective حط antibiotic.

عمل فكرة عشان تبقى ع احتمالات، middlebrook's broth عشان تبقى fluid حط حبة antibiotic يقلل fluid بس selective، حط أجار من غير antibiotic يبقى solid & enriched حط أجار و antibiotic يبقى solid & selective، تاني الراحل جاب شوربة لوحدها و أجار لوحده و antibiotic لوحده وقالك حط بقى أنت، أفكر إن ال occupation period بتراوح من أسبوعين ٨، من الصفات العامة اللي قولناها في الأول إنهم slow grower بيحتاجوا وقت أطول عشان ي grow. أقولك خطأ شائع في الأسواق وأنت لو دكتور شاطر تعرف تلقط العامل بتاعة بير السلم، لو أنت بعت مريض شاك إنه عنده TB وراح العمل وأداهم sputum sample وبعدين يومين جالك بالنتيجة؟ negative for TB أعرف إن العمل ده أي كلام ع طول، ماعندوش المعلومة دي إن ال TB بيحتاج at least 2 weeks عشان ال colonies تبدأ تبان، ما هو لازم يبقى negative بعد يومين لازم أستنى من أسبوعين لثمانية والحل ايه؟ أخذ اسم المريض ورقم العمل واتصل بيهم بعد أسبوعين لو لسة مظهرش أفضل أتابع معاهم كل شوية بردو كل أسبوع.

واحد يقولي وأنا هستفيد إيه؟ من كل ده؟ ده أنا مش ناوي أطلع دكتور معمل، خلاص يا عم خليك في عيادتك بس تبقى عارف لو بعت العمل النتيجة دي صح ولا غلط أدي فائدة المعلومات ال clinical. كل ال mycobacterium ممكن تنمو ع ال media دي، أفترق إزاي بينهم؟ أهو ال mycobacterium TB بالذات can be distinguish from other members by chemical reactions حيث إن ال mycobacterium TB produce niacin اللي هو vitamin B component بت reduce ال nitrate ل nitrite وبت produce catalase، طيب ما أغلب البكتريا بت release catalase أفترق بينهم إزاي؟ إن ال catalase هنا heat sensitive لكن باقي ال catalases بتبقى heat resistant وممكن أتعتمد ع ال DNA props في التمييز بين mycobacterium وال other members

طيب تركيبة ال cell wall زي ما قلت لكم في المقدمة ، أدي ال TB bacillus عنده طبقة من ال peptidoglycans تشبه بتاعة ال gram positive بالضبط ، لكن يضاف اليها طبقة عينة بال lipid اهمها واشهرها ..

١- Mycoic acid اللي هو long chain fatty acid بيتراوح عدد ال carbons فيها من 60-90 C ودي المسئولة عن ال acid fast-ness اللي يقاوم ال effect of the acid اثناء الصبغة .

٢- ال cord factor اللي قولنا عليه من شوية اللي بيخلي ال bacilli تشبك في بعض وتديني منظر الحبل المعرج Serpentine cord .. طيب ده شكله انت بتذكرهولي دلوقتي في تركيبة ال cell wall ليه ؟

- واحد من ال ← virulence factors يمنع ال leukocyte migration انتو عارفين لما يحصل ال inflammation ال leukocyte بت migrate ناحية ال inflammation وده بي diffuse عشان يمنع ال leukocyte لكانه وحتى لو وصلته وبلعته يروح مبوظلها الميتوكوندريا عشان مييقاش فيه energy production ومتبقاش activated ويوظ ال respiration بتاع ال phagocytic cells اللي بيبلعوها.

٣- ← Mycobacterium Sulfolipid ده ي inhibit phagolysosome formation .

يعني دول virulence factors وبيمنعوا ال organism انه يحصله intracellular killing وممكن يعملوا damage للخلايا ؟ نعم .. يعني ال T.B. عنده virulence factors ؟ اه

يعني لما ناس تدخل في المناهج وتقولك ان ال T.B. معندوش virulence factor ولولا ال hypersensitivities مكانش هيبقى في اعراض .. نقولهم سوري بقى خليكوا في منهجكو .. طب هات واحد كده عنده immunodeficiency وحط جواه T.B. هيجصله حاجة اسمها TB disseminated miliary ويموته fatal ..

طب ازاي وال immunodeficient ده لا عنده immunity ولا hypersensitivity ؟ اللي عنده AIDS لا جهاز المناعة بتاعه يضعف يجيله opportunistic bacteria زي ال T.B. يقضي عليه . طيب هيموت المريض ازاي وهو معندوش hypersensitivity ؟ ال high lipid content في ال wall بيخلي للبكتيريا حاجات ودول موضع سؤال في الامتحان :

١- Impermeable to stain : ال stain متعملش penetration فأصبح مصبغش بالصبغات العادية زي ال Ziehl Nelsen stain or flurecent

٢- Resistant to drying : ودي حاجة خطيرة جدا بتساعد في انتشار ال T.B. ، اللي عنده T.B. بيكح مثلا ويبي السputum بتاعه في الارض ويقدر ال organism يتحمل ال dryness لمدة اسابيع ، يجي واحد يكنس الارض يقوم يتطاير في الهواء وانت تستنشقه ، يعني مش لازم تكون في مواجهة المريض عشان تتعدي وانت ممكن يكون فات ايام على ان المريض عدى وانت تتعدي ف عشان كده ال mode of infection مش هنقول droplet infection لكن هنقول air borne infection يعني ما يحمله الهواء مما تبقى من ال droplets .. كونه يتحمل ال dryness يخليه يعدي في غضون اسابيع وينتشر ويعدي ناس بعيدة .

٣- Resistance to many antibiotics : ال cell wall مليان lipids هيخترق ازاي ده مش بس مليون lipids ده محاط نفسه ب caseous material زي ما هنشوف في ال pathology بتاعه ، مما يجعل

- وصول antibiotics له صعب ولو وصلت صعب تدخل جواه .
- ٤- Resist acidity & alkalinity : وهستغل دي في diagnosis كنوع من ال selection لو عندي sputum فيه T.B و other flora اعمل ايه عشان اموت floral من غير ال organism ؟ احط acid or alkali selection ، يموت الفلورا إنما ال TB ي resist الأسيد والألكالي
- ٥- Resist lysis by complement لأن ال MAC ميقدرش يخترق ال cell wall نظرا لل high lipid content
- ٦- طب ولو اتبلعت؟؟ متتهضمش ، يبقى هيقاوم ال intracellular killing جوا ال phagocytic cells

susceptibility of physical and chemical agents

- latent infection لانه يبقى مش فاتح على حاجة في الجسم زي bronchus.
- طيب و ال infectivity مين اللي هيعدي غيره ال case اللي عنده open pulmonary T.B هو اللي يعدي.
- لكن الشخص اللي معندوش open اللي هو latent ومش هيعدي حد
- طيب ال definition مين اللي هسميه case ومين اللي مش هسميه ؟
- ال pulmonary T.B هو اللي هسميه case ، لكن ال latent مش case طب هسميه carrier ؟ لأ برضو ولا carrier له ؟ عشان مش بيعدي
- طول ماهو في الوضع ده مش اسمه case ولا اسمه carrier اسمه latent T.B infection تلاقي حاجات حوالين ال organism تخلي الجو له مش مناسب ، نمرة واحد وجود immune response من cytokines .. اثنين اللمة اللي حواليه قلت ال aeration اقل يعني فيه hypoxia وبعدين وهو بي replicate بيطلع metabolites في المكان بتخلي الجو مع مرور الوقت مش مناسب فيبقى dormant ويقلل ال replication بتاعه لما الناعة تقل هو بينشط بقي يتحرر من الكلا
- ال organism ده عدو لل heat عدو للحرارة عايز تموته سخنه ال T.B اكل له التسخين بصوا ويموت بال heat اذا اتسخن عند درجة 55c لمدة ساعة يموت من الغليان يموت بال autoclaving يموت بال pasteurization عشان كده بيعملوا يسطرة للبن و يموت لو اتعرض لل sunlight.

طيب في التراب هيتحمل الجفاف ولا ال sun light تموته؟

- انت هتجسبها بقي هو في ال organic material عمله له حماية من ال sun light و لا exposed مباشرة لل sun light و exposed قد ايه و ال sample اللي حواليه dry ولا ايه؟ هي عبارة عن combination تخليه يتحمل انه يبقى موجود في ال soil بعد ما يبقى discharged من المريض.
- برده ممكن أقضى عليه ب intermediate level disinfectant و ديه معلومة اخذناها حتى كنا بنستخدمها ك indicator يميز بين ال low level disinfectant و اللي فوقه له ٥ لان لو حبت disinfectant جديد يستعمله لأول مرة و عايز اعرف مستواه لو حطيت ال disinfectant على T.B اتقتل يبقى ده intermediate او high disinfectant.
- بي survive for weeks و ديه معلومة كنت قلتها من شوية ال dry samples يعني لو حصلهم في ال sputum اللي هوى smeared على الملابس او على ال dust.
- بيتحمل ال acidity و ال alkalinity و زي مقولتكم استغلينا ديه في اني ممكن اعمل نوع من

ال selection اثناء لما بزرع ال organism زي ما هنشوف حالا.
 طيب نهدي و ناخذ break ناخذ فيه شوية اسئلة سريعة.
 ال: organism in ### which appear red in ziehl-neelsen stain is:
 diphtheria , T.B , bacillus anthracis ,
 M tuberculosis can be isolated from sputum of patient with T.B by culture on:
 -Bl. Agar -Loffler's medium -Bl. Terullite medium - lowenstein-jensen medium
 يا ترى ال M.tuberculosis :

resist heat , anaerobic , grow rapidly , spore forming , containing mycolic acid
 نمسك واحدة واحدة: قصة ال spores مفيش ولا عائلة في الكتاب و spore forming ال chapter 7 فقط
 كل ال others في هذا الكتاب non spore forming قانون اهو، يا ترى ب resist heat هنا قايلين ان ده
 عدو ال heat ال heat هو اللي بيخلصني منها يبقى مش يقاوم ال heat، يا ترى rapidly growth؟ ده هو
 من صفاته انه slow grower علشان يعمل grow بياخد من اسبوعين لثمانية ، ال anaerobic قلتك
 هيضحك عليك و يقولك anaerobic في الصفحات العامة مكتوب obligate anaerobe افكر يا اخي انه
 بيعيش في ال lung افكر انه بيعمل pulmonary tuberculosis يبقى يحتوي على mycolic acid ده
 صفة من صفاته اللي موجودة في ال cell wall و ده سبب انه ايه بقى؟ انه acid fastness

Which of the following contribute to disease production by mycobacterium bacilli?

يا ترى ايه السبب اللي يخلي ال M.bacilli تعمل disease؟
 mycotoxin production , slow grower , cell wall component , spore size , → dependence
 of oxygen cell wall components لاننا لاحظنا انهم فيهم virulence factor فيهم اللي بيمنع
 phagosome formation و فيهم اللي بيمنع mitochondrial respiration و فيهم اللي بيمنع
 ال migration of leukocytes.
 عشان كده هما اللي مسئولين عن عملية disease او بيشركوا فيها.

ال Mycobacterium cell wall are characterized by:

Phospholipia , mycolic acid (walls) , repeated polysacc. Capsule ، ولا مش عرفة ايه كده.
 واحد عنده ٦٠ سنة بيشتيكي من bl. Sputum ال chronic cough and diagnosis وضح ان عنده T.B
 بعد ال culture لاحظوا ان فيه serpentine like colony morphology.

آخر ملحوظة ده is caused by which of the following يعني ايه سبب ال serpentine appearance اللي انت شفتها؟

Endotoxin, cord factor, large capsule, coagulase
 تعالى بقى نروح لل T.B ك disease و نشوف ايه اللي بيعمله
 T. B يعتبر واحد من major cause of death في العالم كله.
 ال no. Of cases زمان لما لقوا علاج لل T.B و عملوا مستشفيات للدرن ؛ مستشفى الامراض الصدرية في
 مصر مستشفى امبابه و مستشفى في العجوزة و مستشفى في العمرانية و مستشفى في العباسية و
 مستشفى في الحلمية الجديدة كل دول اسمهم مستشفى الصدر و كانوا بيحجزوا فيها مرض الدرن و

يعالجوا الناس و كان المريض يدخن و يخرج و عدد مرضى ال T.B كان بدأ يتناقص في العالم كله بصينا لقينا مرة واحدة ان عدد المرضى بدأ يزيد في الاونة الاخيرة و ده بسبب AIDs pandemic ظهور مرض ال AIDs و تفشييه من بداية الثمانيات خله حالات ال T.B تزيد.
مشكلة اخرى ال T.B لما كش و انحصر و علاجنه بال antibiotics اللي استنى و ممتاش اصبح antibiotic resistant.

فضلي انواع تانية من ال T.B دلوقتي بقت مضاعفة يبقى واحد نقص المناعة بين الناس نتيجة لل AIDs اتبين ال T.B نفسها بقت multidrug resistant.
تعالوا بقى نشوف القصة ازاى و نجاوب على اسئلتكم لاني عارف ان ال T.B وصلكم بكذا version ،
ال mode of infection هيبقى airborne او بين قوسين (aerosol) و مقلتش droplet و ليه بقى مش droplet واللى يقولك droplet يبقى عنده خطأ شائع بص كده هوريك صورة الاول.
البنى ادم اللي بيكح ده مدام شفته بعينك يبقى اسمه droplet و ال droplet ال size بتعها يبقى usually ($>5\text{M}$) more than five micron يعني لو انا كحيت ادم الشعاع بتاع ال projector هنشوف ال droplet اصغر حاجة لل droplet عشان اسميه droplet (5M). ال 5M ده ثقيلة بنسبة للهوا اولاهو مش هيقدر يحملها مسافات بعيدة فال droplet يتفضل في الهوا فترات صغيرة و تبقى transmitted بال air current مسافة لا تزيد عن ثلاثة feet بعد متر بالكثير يعني لو كحيت و واحد قاعد بعد متر ميخفش ال droplet مش هتوصله.

لل droplet حتى لو وصلت فهي كبيرة enough مش هتوصل لل terminal alveoli يحصلها trap في ال mucous membrane بتاع ال respiratory tract و هي داخلة عشان كده ال droplet مش هي الوسيلة المعتمدة لنقل ال T.B امال ايه هي الوسيلة المعتمدة؟
اهو by air borne transmission ما يعرف بال droplet nuclei.
لو انا كحيت ديلوقتي و ال droplet وقعت على الارض هتتبخر فما تبقى من droplet حاملة ال bacilli بتاعة T.B يبقى اسمه droplet nuclei كأنها nucleus الموجودة جوه ال droplet و اللي يتحمل ال organism او ال droplet لزقت في حبات في تراب الارض فال droplet حصلها evaporation و ال organism لزق في dust particles .. ال dust particles بعد كده لاي سبب اسمه aerosol معناها (الاثر البخاخ).

انتبه لما بترش perfume يتشم ريحته من على بعد عن بعد ليه؟
لان ال perfume droplet بتقعد suspended في الهوا و transmitted لمسافات بعيدة يبقى aerosol معناها solution يحمله الهوا ، و هناخد في اخر جدول في vol.3 يعني ايه air borne و يعني ايه air droplet بداية ال size ال droplet is more than 5M ال droplet is less than 5M ديه تتحمل فترات كبيرة و ديه تتحمل فترات صغيرة ديه تتنقل لمسافات بعيدة و ديه تتنقل لمسافات صغيرة و هكذا علشان كده متقلش في ال T.B droplet و لو غلط و كتبتها حط بعدها nuclei.
يبقى inhalation of droplet nuclei carried by air from a patient with open pulmonary T.B ده واحد من mode of transmission.

ال mode الثاني المعتمد اللي هو ايه ingestion of infected animal اللي هو M.bovis اللي يحب الحيوان و بيخرج مع اللبن يعمل intestinal infection طبعاً في طرق اخرى بس دول اشهر و اخطر
mode of transmission ال local lesion. ايه اللي يحصل تعالوا نشوف خطوة خطوة
ال droplet nuclei عشان صغيرة حتما هتبقى inhaled لحد متوصل لل terminal alveoli و هناك فيه ال alveolar macrophage قاعد هناك هي engulf ال bacilli حرب دايرة بين ال alveolar macrophages و بين ال bacilli.

ال alveolar macrophage هتتعرف تغلب و تقتل شوية من ال bacilli اكيد لكن ما تبقى من ال bacilli هيقاوموا ال intracellular killing و هي multiply intracellular و هنا هيقدرنا يعيشوا intracellular لسببين:

١- يعمل inhibition لل phagolysosomes عشان عندهم sulfolipids و ال cell wall بتاعهم بتمنع ال fusion بين ال phagosome و ال lysosome.

٢- لو ال fusion حصل ال fatty wall اللي في ال bacilli still يعمل resist لل killing effect بتاع ال phagocytic cells.

سؤال: كام organism عدوا علينا في المنهج ممكن يعملوا resist لل intracellular killing؟

ال neisseria و ال gonorrhea ؟ كان عنها boring protein كان بيمنع ال phage lysosome formation فكان بي suppress ال respiratory burst و كان عندهم catalase بيكسر H_2O_2 .
مين تاني علينا ال listeria كان بيكسر bores بتاعة ال phagosomes.

ممكن اقولك enumerate organism which can survive intracellularly and mention mechanism ؟

اذن يعتبر T.B facultative intracellular و هنا عايز اقولك حاجة كيف نقسم ال bacteria او ال organism بشكل عام بعلامتها بالخلايا؟ يعني تعيش فين بره و لا جوه الخلية؟
نقسم لمجموعتين extracellular يبقى قادر انه يعيش خارج الخلايا و لو ابتلع يتقتل بسهولة ، امال intracellular دول نقسمهم لمجموعتين مجموعة نقول كلها strict او obligatory زي all viruses ال virus مش بيقدر يعيش بره الخلايا حتى قلنا بيعيش في ال cytosol حتى قلنا all viruses و few bacteria مش وقتهم دلوقتي.
ياما يبقى facultative يعني ايه؟ عنده اختيار اخر معنى انه facultative يعني الاختيار الاول هو extra لكن الاختيار البديل intracellular.
ايه معنى facultative انه مضطر يعيش intracellular لو تم بلعه فلو اتاكل جوه ال phagocytic cell يعيش جوه ال phagosome او يكسر ال phagosome و يعيش بره ال phagosome مين امثلتنا؟
ال T.B و ال listeria كانت برده تقدر تعمل كده.

يبقى هنا اسم ال organism ايه؟ facultative intracellular يعني اصبح عنده بديل انه يعيش intracellular عندما تم بلعه
يبقى facultative intracellular مش facultative anaerobe عشان في ناس بتلغبط عشان ممكن يلغبطك في ال MCQ في الجزئية دي

ممكن يجي يقولك علل ليه TB ممكن يعيش intracellular ؟

الاجابه في ال paragraph اللي فات على طول
عشان بيمنع ال phagolysosome fusion ولو حصل phagolysosome fusion ه still يعيش لأن عنده high lipid content في ال cell wall تجعله ي resist killing effect

ال accumalating bacilli ال TB يكثر قوي ويقعد ي replicate جوه الخلية هي kill the initial alveolar macrophages طيب ازاى؟
ده في ال pathology بيقول لكم معندهوش virulence factor ؟
عنده thin wall وبعضهم ليه toxic effect على الخلايا اللي يخشها

الorganism هيقعد يقتل alveolar macrophage وكمان يهرب منها ويحصل ايه؟ يتقبض عليه بmacrophage تانيه ويبقى الوضع على ما هو عليه

Two weeks later الbacilli هيبقوا translated عن طريق الlymphatic regional lymph node عمالين يقتلوا في الmacrophage ويخرجوا منهم الهمهم هيمشوا في الlymphatic مع الlymphatic ويوصلوا للregional lymph node

الprimary lesion للمكان اللي حصل فيه الTB مع الlymphatics مع draining lymph nodes، together هيعملوا ما يعرف بالcohn's complex تفاصيله وملاحمه مش بتاعتنا تدرسوها في مناهج اخرى

بعد كده few days later بعد الاسبوعين يعني المريض يعاني من حاجه اسمها transient bacteraemia او bacillaemia الorganism هينزل الlymph nodes ويخس على الblood stream وينتشر في الجسم كله ملامح الbacteremia ، دي قصيره مش طويله عشان كده transient وبعد كده الorganism يدور على المكان اللي فيه oxygen عالي عشان هو aerobic عشان كده يروح يتركز في الapices of lung والkidneys والbones والbrain

وبعد كده يحصل characteristic lesion اللي اسمه granuloma وارجو التركيز في الgranuloma هنقولها بالتفصيل في الimmunology chapter 21 بتاع الhypersensitivity بس عايزك تفهمها من دلوقتي وتفهم الهدف منها

ادي الmacrophage قبض على الorganism جوه الphagosome ورشت عليه مواد toxic وفيه شويه من الbacilli اتقتلوا وفيه هيقاوم ، اللي هيقاوم هيفضل ي survive جوه الخليه

طيب و اللي اتقتلوا ده لولاهم ماكناش عرفنا نستدعي الimmune system لأن الmacrophage اخذ الantigen بتاعه الTB اللي تم القضاء عليها وحطها على الsurface بتاعه طالما الorganism كان vesicular يبقى الantigen بتاعته تعامل معمله الvesicular يبقى هحطها مع MHC I طالما حطها مع class II يبقى هنستدعي T helper cells وعليهم الmarker اللي اسمه CD4 وعندهم T cell receptor هيقوموا ييجوا بال CD4 هيتعرفوا على class II و T cell receptor هيتعرفوا على الantigens لـ الantigen هنا يبقى موجود بكميات كبيره و macrophage كمان تروح قايله لل T helper بالله عليك خدي شويه IL-12 اهو و تبعن لل NK تقولها بالله عليك عايزه شويه INF-gamma اهو

التلاته factor اللي اتجمعوا دول IL-12 و INF-gamma و large dose of antigen اللي اتحطوا على الخليه خلوا الT helper تمشي في انهي اتجاه Th1

انتو عايزين Th1 ليه؟ عشان نطلع المزيد من INF-gamma ليه؟ عشان اعما more activation لهذه الmacrophage ده اللي اخدناه في الT cell mediated immune system طيب يقوم نتيجته الcytokine activation ايه اللي يحصل؟

يقول للmacrophage انتي مش قادره على الorganism نبعت نجبلك قرايبك يساعدوكي قرايبك أولى

بيكي يعني هو انا هتصدرلك و هتخافك لك و قراييك قاعدين مانتخين نبعت نجيب المزيد من
 الmacrophage اهو يقوم بجو الmacrophage اهو الصعايده وصلوا يمسكوا ايدهم في ايدين بعض
 ويتحدوا مع بعض ويعملو giant cells
 يبقى عندك في الcenter الcell وحواليها macrophage كثير وبعضهم عمل giant cells
 مندمجين multinucleated cells وحواليهم macrophages كبروا في الحجم يبقى اسمهم
 epithelioid cells وحواليهم T helper cells علشان يساعدوا ويشجعوا يعني حصل تجميعه معينه
 من الخلايا حوالين بعض هنقولها بالتفصيل في الimmunology هذه التجميعه ايه الهدف منها ؟
 الهدف منها تطبيق حكمه الimmunology اللي بتقول اللي ماتقدرش تقتله اعزله
 والجهاز المناعي عنده قانون الحاجه اللي مقدرش اقتلها اعزلها علشان امنع الspread و هو ده اللي
 اسمه tubercle على فكره

علشان كده اتسمت الtubercle ب bacilli علشان بتعمل granuloma اسمها tubercle
 lesion اهو القصة ايه ؟

الorganism بقى كده ايه رأيكم فيه ؟ ده احنا جنبنا له مجموعة من الناس يحاوطوه اهو فال organism
 قال طاطيطالما فيه عالي كده ، يعني ايه ؟
 tolerant الorganism within these tubercle

الM.tuberculosis هت survive بس in small No. in a dormant state ، كده هسمي الحالة latent
 tuberculosis infection ، طيب كلنا اتعرضنا لا T.B تقريبا

الoutcome

تعالى نشوف الoutcome بتاع هذا الinfection كلنا او معظمنا infected بال T.B ، ما هو مصير
 التعرض لا T.B كل الاحداث اللي حكيته دي هتحصل فينا كلنا يعني لو ١٠ شخص مننا اتعرضوا لا T.B ٩٠
 مننا هتحصل فيهم كل الاحداث اللي فانت بنفس الترتيب بس مش هيجيلهم manifestation علشان
 كده immune system هو اللي تغلب هو اللي عزل الorganism وال organism طاطي للريح وبقى
 موجود بكميات قليلة وبقى قاعد dormant هسمي الناس دول ب latent tuberculosis infection
 يعني هما already infected بس الorganism قاعد latent

طيب الكلام ده هيكشفوه ازاى يعني امتى اجي لأى حد فيكوا واعرف انه already اتعرض للorganism
 بال tuberculin test ، يعد مش اقل من ٤-٦ اسابيع من بداية ال infection يعني لو انا دلوقتي ركبت
 ميكروباص وكان حد عنده organism النهاردة لو عملت بكره يطلع negative مش قبل ٦ اسابيع علشان
 الاقي الreaction بقى positive المرحلة شبه ايه ؟ خدناها قبل كده منذ التعرض لحد ما يبقى
 الimmune response positive اسمها مرحلة التحول AIDS و hepatitis C

في مرحلة اسمها الwindow من بداية التعرض لحد ما الimmune response يستجيب اسمها مرحلة
 الconversion ، هي المسافة منذ التعرض للinfection لحد ما الscream test يبقى positive في
 اختبارين ، اختبار اسمه tuberculin واختبار اسمه Quantiferon هنقول تفاصيلهم الحصة الجايه .

manifestation

الهم امال ١٠% الباقيين هيجيلهم حاجه اسمها tuberculosis disease هيجيلهم المرض نفسه ، ال organism هو اللي هيه overcome immune response

وهيحصل manifestation تتراوح من

- malaise يعني يبقى مهمم

- fatigue يتعب بسهولة

- night sweat و

- low grade fever و

- persistent cough و

- واحيانا بيحصل blood sputum ليه ؟ as latent manifestation ال organism او ال disease

- ممكن يحصل في meninges يعمل T.B meningitis

- في lymphatic فال lymph node يعمل lymphadenitis

- و kidney يعمل renal T.B

- ويحي intestine يعمل intestinal T.B

واخذتوا ف pathology انه ممكن ي affect أي organism ممكن يحصل فيه reaction ؟
ايوه وده اللي بيرعب امريكا واوروبا من ال AIDS زي ال immunosuppression او ال immunodeficient او
ال AIDS بيحصل reactivation لل latent T.B و ٥% مة ٩٠% اياهم usually بيحصل في اول سنتين من
التعرض ، أي ضعف في جهاز المناعة تلاقي ال organism يحصلوا activation على طول والشخص يتحول
من latent T.B انه يبقى T.B disease

ايه الفرق بين الحالتين ال latent T.B infection وال pulmonary T.B disease ؟

- الحالتين الاتنين اتعرضوا لل organism وموجود جوه الجسم
- الاتنين ال skin test أو ال QuantiFERON test بيبقي +ve ، تعالى للفروق بقى :
- لو اخدت sputum من المريض و sputum من الشخص ال infected وزرعناهم هيطلع +ve في المريض اللي عنده T.B pulmonary بس مش في latent infection
- طيب و ال manifestation هلاقيها في disease ومش هلاقيها في م اللي حواليهده.

laboratory diagnosis

هناخد جزء من ال laboratory diagnosis ، هاخذ الجزء اللي انت already اتجهزت ليه ال laboratory
diagnosis لل open pulmonary T.B

- طالما حددتلك من العنوان pulmonary T.B يبقى ال sample هتبقى sputum او Broncho alveolar lavage ، طيب هقولكم معلومة وسؤال

ايه المعلومة ← discharged بتاع T.B. يبقى intermediate يعني متقطع يعني مش كل sample هتلاقي ال organism ممكن الاقيها في sample والتانية لأ .
يبقى هنا للاحتياط ينصح باخذ 3 early morning sputum sample ، طيب ثلاث ايام متتالية مفهومة بس early morning ليه ؟

العيان وهو نايم ال secretions بتاعته بتتجمع اول ما يقوم الصبح . مع اول كحة يكحها الصبح اكون مديله sterile container واقوله كح جامد ، طيب النهاردة تصادف ان ميكونش عنده ال organism بكره معندوش يمكن بعده يبقى عنده . طيب ثلاث ايام معندوش خلاص بقى .
- اعودنا لما ناخذ ال sample نعمل direct smear صح ؟

هفرد جزء من ال sputum sample على slide وهصبغ هصبغ بايه ؟
يتصبغ بنصبغ ZeihelNeelsen طيب بنضيفه ازاى افكركم بسرعة بعد لما افرد ال sample على ال slide هحط concentrated carbon fuchsin وانت مازلت مطالب بيها في العملي واسخن واسيبها فترة طويلة وهما صحيح يتصبغوا بصعوبة بس once انهم stained بتبقى persist coloration يقوم هت appear pink bacilli in a blue background

في عالم اخر اسمه Kinyoun قال معلومة مش مهمة اوي ، ده قلد ZeihelNeelsen بالضبط بس استبدل التسخين بال phenol هما الصبغتين نفس ال technique مع استبدال التسخين في ZeihelNeelsen بال phenol في حالة Kinyoun stain هما الاتنين علشان يسهلو دخول الصبغة وده الفرق الوحيد بين الصبغتين .

ينفع اصبغ بصبغة اخرى ؟
نعم بال flurochrome اللي قلنا عليها اول الحصة ... طيب ال organism فاكرين هيبان ازاى orange yellow bacilli in black background

ايه الفرق بين ZeihelNeelsen و ال flurochrome ؟
- الصبغة مختلفة و ال microscope اللي بدور بيه مختلف ماشي لكن هي الفرق في النتيجة مين فيهم more sensitive technique ؟
- يعني مين اللي يمكنكك انك تلاحظ ولو bacillus واحد في sample ؟
ال flurochrome ليه ؟

مش صعب علينا اننا نشوف bacillus لونه orange في black background واللي عنده أي درجة من درجات عمى الالوان ميقدرش يميز بين اللونين في ZeihelNeelsen

الحصة اللي فاتت اخدنا ال bacillus anthracis جواها spores مصبوغة باحمر يعني ال bacillus زرقاء وال spores حمراء

المررة دي T.B. الخلفية زرقاء وال bacillus حمراء ، لو معرفتش تميز الاحمر عن الازرق يبقى انت عندك مشكلة في الالوان ، اسمي الكلام ده معمليا ان ال flurochrome بتبقى more sensitive technique حساس للغاية ، طالما بقول عليه sensitive يبقى مش بيغوت حاجة لو فيه bacillus واحد هتشوفه ، يوريك اقل عدد من ال bacilli بسهولة و more rapid ليه ؟
احنا لما نبص على field هدور عليه على ال bacillus الحمرا بضطر اروح بعينه لنقطة نقطة بال field

لكن لو جبت مصبوغ بال flurochrome بشوف على طول فيه ولا لأ علشان كده بستخدمه كأنه screening لو عندي مريض واحد عايز يكمن على نفسه اصيغ بيه الاول بـ flurochrome ابص بسرعة اللي يطلع -ve يبقى اكيد -ve لان مفيش حاجة خالص مش بيخوف حاجة .

بس خلي بالك هي less specific لانه ممكن يشخص حالات +ve وهي مش +ve ، جايز يكون لقط حاجة متطلعش T.B زي شرح في ال slide ممكن اشوف الشرح بينور او فتلة اتصبغت بال florescent ومتغسلتش كويس هلاقيها بتنور ، اذا احتمال وجود حاجة florescent وتبقى non specific احتمال وارد .

احل ازاي المشكلة دي؟

لو طلع حاجة بتنور مقدرش اقول +ve غير لما اعمل ZeihelNeelsen ، يعني الاول اعمل flurochrome علشان ميعديش مني حاجة اللي يطلع -ve هروحه ، طيب والي +ve هتأكد بال ZeihelNeelsen طيب حلو اوي ، طيب لو المريض عنده T.B مش ال smear احتمال تطلع +ve او -ve ؟ وارد ولا لأ .

ايهما افضل للي عنده T.B ال film يطلع +ve ولا -ve ؟

يبقى لما مريض T.B يطلع عنده ال film +ve film تحمد ربنا ده هي provide early diagnosis يبقى شخصته بدري وهتبدأ تعالجه بسرعة وهتحمي الناس اللي حواليه وفي الحالة دي هتبدأ ال patient case وعشان كده لما يجيله ال film T.B لازم ابص عليه بسرعة .

لو مريض اتشخص meningitis تبدأ علاجه وتكمل ال diagnosis هبدأ علاجه علشان حالة المريض ، الليزة الثانية طالما ال film +ve هقدر اتابع مدى استجابة المريض للعلاج يعني مريض عنده T.B وبدأ يتعالج وكل شوية اخذ منه ال film والاقى ال film مبقاش فيه acid fast bacilli اقله مبروك انت ابتديت تتعافى ، يبقى من ناحية هبدأ علاج سريع ومن ناحية ثانية ه monitor العيان اثناء العلاج .

ملحوظة : يعني اني اشوف acid fast bacilli جايز ميكونش T.B خالص ، جايز يكون member اخر من عيلة ال mycobacterium وده من عيوب ال acid fast bacilli

للمشكلة الثانية لو ال film -ve مش معناه ان المريض معندوش T.B ، لان جايز يكون ال sample مفيهاش ال organism او جايز انك تكون اخذت من ال sample مفيهاش ال organism ، يعني ال film مش كافي ؟

اه مش كافي علشان كده قلنا تشخيص مبدئي يعني امتي احلف ان المريض عنده T.B ؟

بحاجتين:

- بال molecular methods وهي دي طرق ال direct detection ، طيب متعملوها ؟

بنعملها بـ مقدرش اعملها اختبار عام في الامستشفيات العامة ، ليه ؟

غالي جدا ، يتراوح الاختبار من دول من ٤٠ الى ٥٠ جنيه للاختبار الواحد لكن لو جاله وقادر يعمل يروح يعمل ، هدور على ال DNA ان وجد وهدور على specific gene يميز ال T.B وكمان يميز ال human type عن other members

- يا اما البديل الأسهل ال cultivation علشان اعمل culture قتللكم عندي مشكلة خطيره ال T.B مش جي لوحده في ال sample ، امال جي معاه مين ؟

جي معاه other flora علشان كده اول مرة نقولك انك قبل ما تزرع sample لازم تعملها processing

النقطة دي ممكن تتسأل سؤال لوحدها ، يعني ايه processing اعمل يعني اضبط ال sample اجهزها الاول طيب ازاي ؟

بدي container للمريض يكح ويديني السputum حلو واحط عليه equal volume من مادتين ، مادة اسمها sodium hydroxide ومادة اسمها N-acetyl L-cysteine واسيبهم فترة كده ثلث ساعة او نص ساعة .

هدفي حاجتين ، كلكم عارفين السputum يبقى very thick او viscid لزج احيانا تكح نلاقيها كتلة كده ، طيب لا يكون الorganism محبوس جوه الكتلة دي يبقى زرعه صعبة من هنا N-acetyl L-cysteine يبقى mucolytic فهد sample liquefy يقوم يحرر ال T.B. اللي already قاعد محبوس جوه sample

اتنين اضافة sodium hydroxide هيموت الflora normal يبقى بيعمل حاجة اسمها decontamination ، اعتمدت في ايه على الخطوة دي ؟ اعتمدت ان تركيب ال wall بتاع T.B جعلها more resistant لا alkaline يبقى الflora ماتت وال T.B استحمل واحد يقول بس كده فيه عيب ؟ اقوله ايه يقول عندي عشره bacilli في sample انت كده خلتهم diluted اوي ، يعني بدل اما

10 bacilli كانوا موجودين مثلا 10ml دلوقتي موجودين في 2ml في sample

علشان كده بعمل الخطوة الثالثة اللي هي centrifugation علشان اعمل concentration علشان ال sample بتقت diluted لا ضفت عليها ال solutions دي ، ممكن اسألك ليه بعمل processing بشكل عام يبقى هتقول كله وايه اهمية كل خطوة .

حلو بعد ماتحصل على deposit من عملية ال centrifugation هتعمل ايه ؟ اخر حاجة في حصتنا اهو هنزرع ،

طيب هنزرع على ايه ؟ عندي طريقتين للزرع واحدة اخدناها والثانية هناجلها للحصة الجاية .

(١) الطريقة الاولى للزرع اسمها conventional method

يعني الطريقة التقليدية اللي هوا بزرع على **Lowenstein Jensen** اللي قلنا عليها في اول الحصة ، medium لونه اخضر اهو

لو ال Middlebrooks بتبقى medium لونها اصفر اهو aerobically incubate في وجود carbon

dioxide ٥-١٠% في درجة ٣٧° و يطلع في خلال ٢-٨

طالما عندي colony اقدر اعرف انها T.B لاني عملها identification by chemicals بال production of niacin او nitrate reduction او ال catalase test .

طيب مينفعش اختصر المسافة ؟ نعم ، ممكن ازرع على fluid medium ب techniques خاصة اوفر وقت والنتيجة تطلع من ٤-١٤ يوم بالكثير بطريقتين هنعرفهم الحصة الجاية اسمهم fluid medium systems

